FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Vimentin
Clon V9
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Nº de catálogo IS630

Uso previsto

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Vimentin, Clon V9, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus. Este anticuerpo ayuda en la identificación de células de origen mesenquimal en tejidos normales y neoplásicos, y es útil para diagnosticar tumores. La interpretación clínica de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un patólogo calificado dentro del contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

La vimentina es una proteína de filamentos intermedios (IF) con una masa molecular de 57 kDa, que forma parte del citoesqueleto de las células de los vertebrados. La vimentina pertenece a la clase III de las cinco clases* de IF, que comprenden nueve grupos, y muestra un alto grado de especificidad para las células de origen mesenquimal. Inicialmente se pensó que la especificidad del tipo de célula, exhibida por cada subtipo IF, estaba retenida tanto en las células malignas como en sus homólogas normales, lo que convertía a los IF en importantes marcadores diagnósticos en histogénesis. Ahora se ha demostrado la coexpresión de los filamentos intermedios, particularmente la vimentina y la citoqueratina, en una variedad de tejidos y células normales y en lesiones neoplásicas, lo que exige un panel de anticuerpos para el diagnóstico diferencial de tumores (2).

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: (1) Principio del procedimiento, (2) Material necesario pero no suministrado, (3) Almacenamiento, (4) Preparación de la muestra, (5) Procedimiento de tinción, (6) Control de calidad, (7) Solución de problemas, (8) Interpretación de la tinción y (9) Limitaciones generales.

Reactivo suministrado

El anticuerpo monoclonal de ratón listo para usar se suministra en forma líquida en una solución tampón que contiene proteína estabilizante y 0,015 de mol/L NaN_3.

Clon: V9. Isotipo: Ig1, kappa.

Inmunógeno

Vimentina purificada de cristalino porcino (3).

Especificidad

En la transferencia de Western de vimentina porcina purificada, el anticuerpo marca una única banda de 57 kDa que corresponde a la vimentina. Al aplicar extractos de células enteras de líneas celulares que expresan vimentina más proteína acídica fibrilar glial y vimentina más desmina, respectivamente, el anticuerpo marca específicamente la banda de 57 kDa de la vimentina. Estos experimentos muestran de manera directa que el anticuerpo no reacciona con las dos proteínas IF más estrechamente relacionadas con la vimentina, es decir la desmina y la GFAP (3).

En inmunocitoquímica, el anticuerpo marca las líneas celulares humanas IMR90, RD, glioma y HeLa (3) positivas para vimentina.

Precauciones

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida de sodio (NaN_3), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado el producto, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto de origen biológico, deberán aplicarse los procedimientos de manipulación adecuados.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución que no se utilice deberá desecharse de acuerdo con las normativas locales, provinciales y nacionales.

Almacenamiento

Almacenar a 2–8 ºC. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario deberá comprobar dichas condiciones. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán analizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. En caso de observarse una coloración inesperada que no puede ser explicada por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospeche un problema con el anticuerpo, comuníquese con la asistencia técnica de Dako.

Preparación de las muestras, incluido material necesario pero no suministrado

El anticuerpo puede utilizarse para marcar cortes de tejido fijados con formol e incluidos en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en secciones de aproximadamente 4 µm.

Se requiere el tratamiento previo con recuperación del epítopo inducida por calor (HIER) usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario de PT Link. Se obtienen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004).

Cortes incluidos en parafina: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina siguiendo el procedimiento de preparación de la muestra 3 en 1 para Dako PT Link. Siga el procedimiento previo al tratamiento explicado en el prospecto de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (nº de catálogo K8010/K8004). Nota: Después de la tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.

Cortes desparafinados: se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados, fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link y siguiendo el mismo procedimiento descrito para los cortes incluidos en parafina. Tras la tinción, los portaobjetos deben montarse utilizando un medio de montaje acuoso o permanente.

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de FLEX IHC Microscope Slides (nº de catálogo K8020).

Procedimiento de tinción, incluido material necesario pero no suministrado

El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8010). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software de los instrumentos Dako Autostainer/Autostainer Plus utilizando los siguientes protocolos:

Plantilla del protocolo: FLEXRTU2 (volumen de dispensado de 200 µL) o FLEXRTU3 (volumen de dispensado de 300 µL).
Autoprograma: VimV9 (sin contratinción) o VimV9H (con contratinción).

El paso Auxiliar debe configurarse a "tampón de enjuague" en sesiones de tinción con ≤10 portaobjetos. Para sesiones de tinción con >10 portaobjetos, el paso Auxiliar debe configurarse a "ninguno". Esto garantiza tiempos de lavado similares.

Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente. Consulte el Manual del usuario para más detalles sobre el instrumento correspondiente. Si todavía no están disponibles los protocolos en el instrumento Dako Autostainer utilizado, comuníquese con el servicio técnico de Dako.

Las condiciones óptimas pueden variar según la muestra y el método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que el rendimiento del protocolo ajustado siga siendo válido confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en "Características de resultados".

Se recomienda la contratinción con hematoxicilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo K8018). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.

Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El control positivo de tejido debe incluir amígdala e hígado, y las células/estructuras deben exhibir patrones de reacción como se describe para este tejido en "Características de resultados" en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (nº de catálogo IS750).

Interpretación de la tinción

El patrón de tinción celular es citoplasmático.

Características de resultados

Tejidos normales: En general, el anticuerpo marca la mayoría de células mesenquimales humanas, incluidos fibrocitos, lipocitos, células del músculo liso, células endoteliales vasculares, astrocitos, células del nervio periférico (Schwann) y macrófagos (incluidas células de Kupffer), así como células mioepiteliales de las glándulas sudoríparas y salivales y de mama, que son fuertemente marcadas. Las células foliculares de la tiroides, la corteza suprarrenal y los túbulos renales distales, y las células mesangiales y endoteliales del glomérulo renal, así como las células pancreáticas acinares, son positivas y tienen una distribución e intensidad variables (1, 3). En el ojo humano, el anticuerpo marca el epitelio pigmentado anterior y posterior del iris humano, incluida la porción muscular (dilatadora de pupilas) del epitelio anterior, así como el epitelio ciliar pigmentado y no pigmentado (5). En el epitelio ciliar, la vimentina se expresó junto con la citoqueratina (5). Las células del músculo cardíaco y esquelético, las células epidérmicas, escamosas, uroteliales, colónicas y de la mucosa gástrica, y las células gliales, fueron consistentemente negativas con el anticuerpo (1, 3).

Tejidos anormales: El anticuerpo marcó 17/20 sarcomas, 16/18 melanomas, 4/4 meningeomas, y 3/3 schwanomas, y fue el único filamento intermedio presente en estos tumores. Además, porcentajes variables (10–57%) de carcinomas, carcinomas neuroendocrinos, neuroblastomas, timomas y mesoteliomas fueron positivos con el anticuerpo. Con la excepción de los neuroblastomas, la citoqueratina se expresó junto con la vimentina en estos tumores. Entre los adenocarcinomas, más del 50% de los carcinomas papilares de tiroides, así como los carcinomas renales, endometriales, ováricos y pulmonares fueron marcados por el anticuerpo y coexpresaron queratinas y vimentina (1).

Referencias bibliográficas

1. Azumi N, Battifora H. The distribution of vimentin and keratin in epithelial and nonepithelial neoplasms. Am J Clin Pathol 1987;88:286–96.
2. Herrmann H, Aebi U. Intermediate filaments and their associates: multi-talented structural elements specifying cytoarchitecture and cytodynamics. Curr Opin Cell Biol 2000;12:79–90.
3. Osborn M, Debus E, Weber K. Monoclonal antibodies specific for vimentin. Eur J Cell Biol 1984;34:137–43.
4. Bohn W, Wiegers W, Beuttenmüller M, Traub P. Species-specific recognition patterns of monoclonal antibodies directed against vimentin. Exp Cell Res 1992;201:1–7.
5. Kivelä T, Fuchs U, Tarkkanen A. Cytoskeleton in neuroectodermally derived epithelial and muscle cells of the human iris and ciliary body. J Histochem Cytochem 1992;40:1517–26.

Explicación de los símbolos

REF	Referencia	2 °C 8 °C	Limitación de temperatura		Fecha de caducidad
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*	Σ	Contiene suficiente para <n> ensayos		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso	LOT	Código del lote		

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17